

AMPLIFICANDO O METABOLISMO

O CÓDIGO DO AZUL DE METILENO



 Luis Otávio Aguiar Cavicchia

PREFÁCIO

A bala de prata é uma figura recorrente no folclore e na cultura popular, simbolizando uma solução simples e eficaz para problemas complexos, especialmente no contexto de monstros como lobisomens e bruxas.

Além de ser uma arma letal em histórias fantásticas, o termo “bala de prata” também é amplamente utilizado em contextos figurativos, indicando uma solução única e infalível para desafios complicados.

Em geral, a ideia de bala de prata sugere que um problema aparentemente intratável pode ser resolvido de maneira eficiente e definitiva com a ferramenta ou abordagem certa.

Este livro examina o potencial do azul de metileno como uma solução eficaz para disfunções metabólicas e mitocondriais, usando o conceito da 'bala de prata' para ilustrar como uma abordagem inovadora pode resolver problemas complexos.

Se você está curioso sobre como uma substância aparentemente simples pode ter um impacto significativo na medicina e funcionamento do corpo, este livro fornecerá respostas detalhadas e percepções baseadas em evidências científicas.

Agradeço seu interesse e espero que esta leitura seja tanto informativa quanto inspiradora.

Luis Otávio Aguiar Cavicchia

Copyright © 2024 – Todos os direitos reservados. Lei nº 9.610/1998 dos Direitos Autorais do Brasil. Conforme determinação legal, essa obra não pode ser plagiada, utilizada, reproduzida ou divulgada sem a autorização de seus autores.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com a ISBD

C316o Cavicchia, Luis Otávio Aguiar

O Código do Azul de Metileno - bala de prata azulada amplificadora do metabolismo / Luis Otávio Aguiar Cavicchia. - Editora Scienza : São Carlos, 2024.

27p. ; il. cor

ISBN : 978-65-5668-170-2

DOI - <http://dx.doi.org/10.26626/9786556681702.2024B0001>

1. Azul de metileno. 2. Intervenções terapêuticas. 3. Tratamento de saúde.
4. Biologia celular. 5. Química. I. Título.

CDD 540

química e ciências afins

Elaborado por Editora Scienza
Índice para catálogo sistemático:
1. química e ciências afins. 540.

AVISO

Este livro sobre azul de metileno é informativo e **não serve como prescrição médica**. O autor não se responsabiliza pelo uso indevido do conteúdo. Sempre consulte um médico ou farmacêutico antes de usar azul de metileno. As doses e tratamentos devem ser supervisionados por profissionais qualificados. Esteja ciente de que **a automedicação é prejudicial**. **Consulte um profissional de saúde para orientação e prescrição apropriada.**



Rua Juca Sabino, 21 – São Carlos, SP

(16) 9 9285-3689  

www.editorascienza.com.br | gustavo@editorascienza.com

ÍNDICE

Introdução

O azul de metileno (AM)	5
AM, usos e história	8
Biologia celular mitocondrial e metabolismo energético	9

A mitocôndria azulada

O AM no metabolismo e funcionamento mitocondrial-energético	11
Alterações mitocondriais induzidas pelo azul de metileno (AM)	13
O termogênico azul	15

Farmacologia

Comportamento sistêmico	17
Apresentações, doses e protocolos	19
Colaterais e cuidados	20

Encerramento

Considerações Finais	21
Referências Bibliográficas	22

O AZUL DE METILENO (AM)



O azul de metileno (AM), também conhecido como cloreto de metiltionínio ($C_{16}H_{18}ClN_3S$), teve origem em 1876 como um corante têxtil à base de anilina na Inglaterra. Desde então, evoluiu para desempenhar papéis cruciais na coloração biológica e como antídoto para envenenamento por cianeto nas décadas de 1920 e 1930 [1,2].

Suas propriedades únicas também o tornaram um agente antimalárico e antisséptico, além de se tornar um tratamento para metemoglobinemia e distúrbios psiquiátricos, o AM demonstrou eficácia em diversas condições recentes, incluindo choque vasodilatador, choque séptico, prurido anal idiopático, coadjuvante em terapia fotodinâmica contra tumores, estabilização hemodinâmica em cirurgias e potencial tratamento para a doença de Alzheimer. Essas descobertas destacam o azul de metileno como um composto versátil e promissor em pesquisas e intervenções médicas contemporâneas [1-12].

As mitocôndrias, organelas fundamentais para a saúde celular, desempenham papéis vitais em diversos processos, incluindo o metabolismo energético, regulação apoptótica, e homeostase. Morfologicamente elas são divididas em: (1) - matriz, (2) - membrana interna, (3) - externa e (4) - espaço inter membranas. Essas organelas são cruciais para a bioenergética, uma vez que nelas, ocorre o ciclo do ácido tricarboxílico (ciclo de Krebs) e a fosforilação ao nível de substrato [13,14].

A cadeia transportadora de elétrons (CTE), localizada na membrana mitocondrial interna, constituída por cinco complexos (I-V), os quais proporcionam o transporte de elétrons e influxo dos íons H^+ para o espaço inter membrana, culminando na síntese de ATP pelo Complexo V, reação denominada de fosforilação oxidativa [13,14]. Dentro desse contexto, é essencial que a integridade e bom funcionamento dessas organelas e suas estruturas.

Disfunções mitocondriais, especialmente nos complexos I e IV, resultam no aumento do estresse oxidativo, danos celulares e prejuízos na homeostase bioenergética. Mitocôndrias funcionais e saudáveis são essenciais para a adaptação humana, uma vez que respondem e promovem a adaptação a estressores fisiológicos, proporcionam a homeostase metabólica, energética e fisiológica, influenciando diretamente estado de saúde e composição corporal.

Contrariamente, a disfunção mitocondrial está intrinsecamente ligada a condições patológicas de saúde, como a doença de Alzheimer, obesidade e diabetes.

De tal modo, compreender os mecanismos mitocondriais envolvidos no metabolismo é crucial para traçar estratégias de promoção da saúde e intervenções terapêuticas [15-18] assertivas e eficientes, envolvendo principalmente as condições patológicas que envolvem a perda de função e/ou ineficácia dessa organela.

O azul de metileno (AM) é uma molécula anfipática e exibe propriedades únicas que o tornam altamente permeável aos tecidos e células [19]. Ao modular genes e processos-chave no metabolismo mitocondrial, ele desempenha um papel significativo na respiração celular e modificando positivamente processos e complexos da cadeia transportadora de elétrons (CTE) mitocondrial, além de promover a ativação de diferentes vias metabólicas benéficas.

O AM funciona como um transportador ao receber elétrons do NADH e FADH provenientes dos complexos I e II, reduzindo-se a leucometileno (LM). O leucometileno, por sua vez, transfere esses elétrons para a citocromo c oxidase (complexo IV), após essa transferência, o leucometileno (LM) é oxidado de volta a sua forma de azul de metileno (AM) [18,19]. Estabelecendo, assim, um ciclo entre essas duas moléculas.

O ciclo redox intramitocondrial estabelecido facilita o fluxo de elétrons ao longo da cadeia respiratória, contornando parcialmente a necessidade dos complexos I e II da cadeia transportadora de elétrons (CTE), uma vez que esse ciclo direciona os elétrons diretamente ao complexo IV. Dessa forma, o azul de metileno age como um catalisador redox, contribuindo para o aumento da eficácia da respiração celular, principalmente em cenários onde esse processo está prejudicado [15-19], como, por exemplo: na doença de Alzheimer, obesidade e diabetes.

Além disso, o AM promove a atividade do citocromo c oxidase, parte do complexo que recebe os elétrons transferidos pelo leucometileno (LM), resultando na posterior síntese de ATP catalisado pela ATP sintetase.

Outro resultado observado pelo fenômeno de contorno dos complexos I-III, induzido pelo ciclo entre o azul de metileno (AM) e o leucometileno (LM), é a redução da produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) que ocorre principalmente nestes primeiros complexos pelo vazamento de elétrons. Assim, há uma redução no estresse oxidativo e modulação positiva no balanço entre oxidação e redução intracelular, culminando em um ambiente intramitocondrial com menos oxidação e maior efeito antioxidante.

Foi constatado que o azul de metileno (AM) também atua regulando ascendentemente fatores antioxidantes intracelulares, dentre eles: NRF2 derivado de eritróide/elemento de resposta antioxidante (Nrf2/ARE) e da proteína associada a ECH tipo Kelch 1 - fator 2 relacionado ao fator 2 nuclear eritroide (KEAP1-NRF2) [15,19,20,21].

Assim, o papel do azul de metileno (AM) como agente terapêutico pode ser crucial em condições patológicas relacionadas ao estresse oxidativo, como doenças neurodegenerativas e cardiovasculares.

Ao mesmo tempo, seu efeito regulador sobre os fatores antioxidantes intracelulares e inibidor da síntese de EROS destaca a capacidade do AM de fortalecer as defesas naturais da célula, promovendo a homeostase e a saúde mitocondrial a longo prazo.

Adicionalmente, o azul de metileno (AM) também consegue modular processos envolvendo a biogênese, funcionamento e metabolismo mitocondrial.

Segundo Shin et al. (2014)[22] e Shen et al. (2019)[23] O azul de metileno (AM) ativa a sirtuína 1 (SIRT1), induzindo a posterior desacetilação e ativação da proteína quinase ativada por AMP (AMPK), desencadeando a indução de fatores intranucleares essenciais e culminantes na biogênese mitocondrial.

Além disso, o composto altera a proporção entre NAD^+ e NADH [22], de tal modo, sinalizando um estado de privação energética similar ao déficit calórico.

Adicionalmente, o azul de metileno (AM) parece atuar na ativação da AMPK de outra maneira, uma vez que apresenta uma notável e elevada capacidade fosforiladora da AMPK, sendo significativamente superior ao ribonucleotídeo 5-aminoimidazol-4-carboxamida (AICAR), um potente indutor da fosforilação da AMPK. O AM também se demonstrou eficaz na reversão da disfunção mitocondrial e na redução da erosão telomérica, atenuando os danos nesta organela e diminuindo o desgaste e envelhecimento celular [23].

Além disso, o composto também apresentou a capacidade de elevar a enzima carnitina palmitoiltransferase-1 (CPT-1), crucial na regulação e promoção da oxidação mitocondrial de lipídios. Outro efeito regulador mitocondrial observado, foi que o azul de metileno regula positivamente os micro-RNAs mitocondriais, evitando dano no DNA mitocondrial [22].

O azul de metileno (AM) exerce efeitos reparadores e renovadores em estruturas mitocondriais danificadas, ativa a autofagia e regula positivamente a expressão do complexo IV na cadeia transportadora de elétrons (CTE), além de induzir um estado de hipermetabolismo em modelos animais [14,24].

Em análises preliminares, demonstrou-se capaz de aumentar a fosforilação ao nível de substrato e a oxidativa, contribuindo para a homeostase bioenergética, principalmente em mitocôndrias comprometidas e disfuncionais [23,25].

Estudos in vivo mostraram que o AM melhora índices hemodinâmicos e ecocardiografia em ratos com diabetes mellitus tipo 1, tais efeitos são relacionados à amplificação da oxidação da coenzima NADH, aumento da eficácia da respiração celular e atividade da enzima SIRT 3 [26,27].

Apesar das diferenças entre modelos animais e humanos, estudos sobre os efeitos termogênicos do AM em ambientes variados destacam sua complexidade e a necessidade de mais investigações, especialmente em contextos tropicais, exercícios físicos e intervenção dietética.

Embora ainda haja lacunas a serem preenchidas, os resultados sugerem que o AM pode ser um agente promissor em intervenções terapêuticas, influenciando positivamente o metabolismo mitocondrial e, consequentemente, a saúde celular e organelar.

Consoante a isso, este estudo investiga e explora essa perspectiva, proporcionando uma compreensão mais aprofundada sobre o potencial aprimorador do azul de metileno no âmbito de intervenções terapêuticas.

Além disso, destaca-se como um agente promotor de benefícios substanciais para a saúde celular e o funcionamento mitocondrial.

AM, USOS E HISTÓRIA

A origem do cloreto de metiltionínio ($C_{16}H_{18}CN_3S$) ou azul de metileno (AM) data do ano 1876, onde foi sintetizado e utilizado como corante têxtil à base de anilina na Inglaterra. Sendo utilizado para as marcações na microscopia na coloração biológica em histologia, bacteriologia e hematologia [1].

Seu uso na microbiologia e histologia foram motivadores e impulsionaram o campo de estudo sobre esse composto e devido às suas propriedades físico-químicas únicas, passou a ser indicado por cientistas da saúde pública como um antídoto reversor do envenenamento por cianeto (CN^-) nas décadas de 1920 e 1930, além de ser amplamente utilizado como um agente antimalárico e antisséptico [1,2].

O azul de metileno (AM) também tendo sido indicado como um eficaz antídoto para as múltiplas causas da metemoglobinemia, um fenômeno patológico marcado pela oxidação e consequente disfunção da hemoglobina, gerando incapacidade e insuficiência no transporte de O_2 [2].

Ele também foi um dos primeiros medicamentos usados para o tratamento de psicose no fim do século XIX. Já em 1980, passou a ser estudado como um possível tratamento do transtorno maníaco-depressivo [2,3].

Suas atuais indicações e usos também compreendem em casos de encefalopatia induzida por ifosfamida, envenenamento por nitrato (NO_3^-) e monóxido de carbono (CO) [3].

Nos últimos cinco anos, estudos sobre os potenciais terapêuticos e utilidades deste composto apontam possíveis usos em múltiplas patologias e condições de saúde, sendo elas: choque vasodilatador [4], prurido anal idiopático [8], choque refratário infantil [9], coadjuvante na terapia fotodinâmica para combate de tumor colorretal, carcinoma e melanoma [10], diminuição nos riscos de mortalidade e outras ramificações deletérias ocasionadas pela síndrome vasoplégica [11], estabilizador hemodinâmico [12] e profilático em cirurgias de obstrução da vesícula biliar [7], diminuição dos casos de delírio pós-operatório (DPO) e disfunção cognitiva pós-operatória precoce (DCPO) em idosos [5], tratamento da doença de Alzheimer [6], dentre outras.

À medida que a pesquisa avança, a versatilidade do azul de metileno continua a impressionar cientistas e profissionais de saúde. Seu papel expansivo, desde seu início como corante têxtil até seu uso como agente terapêutico multifacetado, destaca a importância do desenvolvimento contínuo no campo da medicina e da bioquímica.

Com sua eficácia comprovada em um amplo espectro de condições, o azul de metileno se firma como um componente valioso em tratamentos médicos inovadores.

Ao mesmo tempo, seu potencial não é limitado pelo presente, mas sim pelo desejo humano de explorar novas fronteiras do conhecimento.

BIOLOGIA CELULAR MITOCONDRIAL E METABOLISMO ENERGETICO

A mitocôndria é uma organela fundamental na saúde metabólica e fisiológica, quando disfuncional, proporciona condições patológicas. Sua função não se resume ao metabolismo energético e síntese de ATP, se estendendo para múltiplos mecanismos e funcionalidades que vão desde a homeostase do ferro e cálcio intracelulares, regulação apoptótica, comunicação com as demais organelas celulares, modulação epigenética, sistema antioxidante e até a síntese de hormônios e neurotransmissores [13,14].

Essa estrutura permite e influencia a comunicação em todos os níveis físicos, através da interação com as outras estruturas, o núcleo e o ambiente externo. Destarte, sugerem-se elos entre as mitocôndrias e relógios circadianos, microbiota intestinal e o sistema imunológico [14-16].

Além do seu papel fundamental na bioenergética, a mitocôndria também possui um papel na regulação do cálcio intracelular, um elemento fundamental para a sinalização celular e para o controle da atividade muscular. Essa organela consegue armazenar e liberar cálcio (Ca^{2+}), auxiliando na manutenção da homeostase do cálcio no citosol, consequentemente influenciando processos como a contração muscular e secreção de neurotransmissores.

A mitocôndria é morfológicamente dividida em matriz, membrana interna, membrana externa e espaço inter membranas. De modo que, tais localidades e divisões são de devida importância, uma vez que abrigam o maquinário celular necessário para todo o metabolismo mitocondrial integrado.

Após a disponibilidade de substrato do meio intracelular da célula hospedeira para o meio intracelular mitocondrial, se inicia o ciclo tricarboxílico, popularmente chamado de ciclo de Krebs, sendo realizado na matriz mitocondrial por meio da síntese direta de acetil-CoA e/ou demais intermédios [13-16].

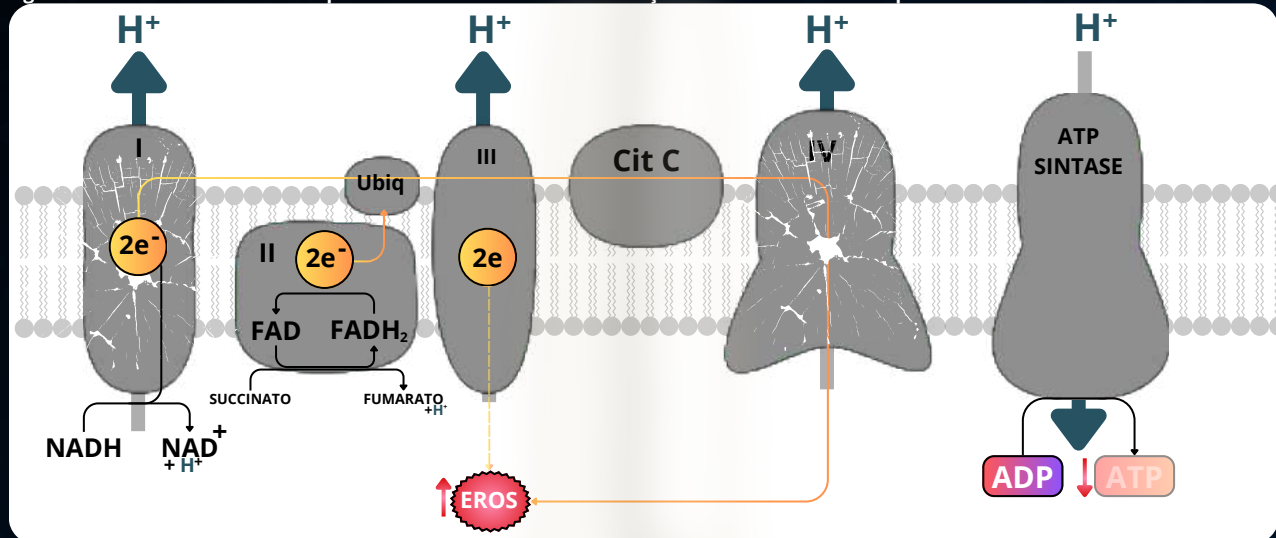
Este ciclo consiste em uma série de oito etapas enzimáticas anfibólicas, sintetizando intermédios, outros produtos e elétrons, os quais são capturados pelos agentes redutores NADH e $FADH_2$.

Essas duas coenzimas são carreadoras e doadores de elétrons que, por fim, são transferidos para os complexos I e II, pertencentes aos complexos multi-hemerodiméricos (I-IV), localizados na membrana interna mitocondrial, componentes a cadeia transportadora de elétrons (CTE), que compreende a membrana interna e o espaço intermembranas [17,16].

Resumidamente, a cadeia de transporte de elétrons mitocondrial (CTE) desempenha um papel crucial na síntese de ATP. Localizada na membrana mitocondrial interna, a CTE consiste em cinco complexos distintos. Os Complexos I e II funcionam como pontos de entrada e depósito dos elétrons respectivamente provenientes do NADH e $FADH_2$.

Esses elétrons são conduzidos pelos Complexos III e IV, com o auxílio da ubiquinona (Q10) e citocromo c, resultando na geração de ATP pelo Complexo V (ATP sintase). A disfunção mitocondrial pode causar danos oxidativos, principalmente nos complexos I e IV, levando à superprodução de espécies reativas de oxigênio (EROS) e aumento do estresse oxidativo, potencialmente resultando em danos celulares e menor capacidade de produção de ATP [15-18] por fim, se forma um ciclo de disfunção mitocondrial, como representado na (Figura 2).

Figura 2 – Modelo da cadeia transportadora de elétrons com disfunção mitocondrial nos complexos I e IV.



Fonte: Luis Otávio Aguiar Cavicchia (2024)

As mitocôndrias, atuando como ponto de intersecção entre estímulos externos e respostas biológicas intracelulares ao estresse, desempenharam um papel crucial na adaptação humana. Essa função permitiu que ocorressem respostas fisiológicas adaptativas, benéficas e flexíveis às novas condições ambientais [13,16].

Os estressores fisiológicos agudos que desencadeiam adaptações mitocondriais, como restrição calórica, baixa disponibilidade de nutrientes, exposição ao frio e ao calor, exercícios físicos e jejuns, tornaram-se elementos importantes para o funcionamento mitocondrial, a saúde geral e a homeostase energética [13,14,17,19].

Segundo Walker & Moraes (2022)[16] e Casanova et al. (2023)[13], a disfunção mitocondrial é resultado e participa intrinsecamente de um ciclo entre surgimento e agravamento de condições patológicas e estados deletérios de saúde.

Assim, esse fenômeno é reconhecido por ser relacionado com diversas condições patológicas de saúde, por exemplo, falência cardíaca, câncer, diabetes, doenças neurológicas e obesidade [15,17,18].

A viabilidade e funcionalidade mitocondrial é diretamente influenciada pela síntese de espécies reativas de oxigênio (EROS), homeostase de cálcio (Ca²⁺) e sinalização da proteína quinase ativada por AMP (AMPK) [14-17].

AZUL DE METILENO NO METABOLISMO E FUNCIONAMENTO MITOCONDRIAL-ENERGÉTICO

Devido a sua natureza estrutural, o azul de metileno (AM) é uma molécula hidrofílica e lipofílica, sendo classificada como anfipática. De tal modo, penetra facilmente nos tecidos e suas respectivas células [19] ao penetrar nas mitocôndrias, o azul de metileno (AM) modifica os processos da respiração celular que ocorrem na cadeia transportadora de elétrons (CTE) [19, 20] proporcionando alterações no metabolismo energético e transporte de elétrons.

O AM, ao receber elétrons, se reduz a leucometileno (LM), o potencial redox do AM é de 11 mV, devido à tal fato, o AM pode compor facilmente um ciclo entre sua oxidação (azul de metileno) e redução (leucometileno) no meio intracelular. Tais características permitem que o AM atue como um ciclador REDOX catalítico nas mitocôndrias, promovendo um aumento na atividade do citocromo c oxidase e a síntese de ATP [20-23].

Ao mesmo tempo, essa atividade cíclica diminui a produção das espécies reativas de oxigênio (EROS), uma vez que proporciona um contorno e redirecionamento dos elétrons diretamente para o complexo citocromo c oxidase (complexo IV). Esse contorno diminui o fenômeno de vazão de elétrons no complexo I e III e consequentemente, produção de EROS [19,21-25].

O AM atua similarmente ao NADH e FADH_2 , uma vez que captura os elétrons e os direciona para o citocromo C, transpondo os complexos anteriores ao citocromo c oxidase (IV) [19,21-25].

Sugere-se que a AM oferece uma rota alternativa para a transferência de elétrons após a conclusão do ciclo redox ($\text{AM} \rightarrow \text{Leucometileno} \rightarrow \text{AM}$), os elétrons do NADH/ FADH_2 são canalizados para o citocromo C por meio de uma via distinta. A transferência alternativa de elétrons mediada pelo azul de metileno (AM), prevenindo assim a produção de espécies reativas de oxigênio (EROS).

De modo que, cria-se o modelo teórico do AM proporcionando um transporte alternativo de elétrons (Figura 2).

Figura 2 - Modelo comparativo teórico entre o funcionamento mitocondrial natural (A) e com o azul de metileno (AM) atuando aceptor e transportador de elétrons (B).

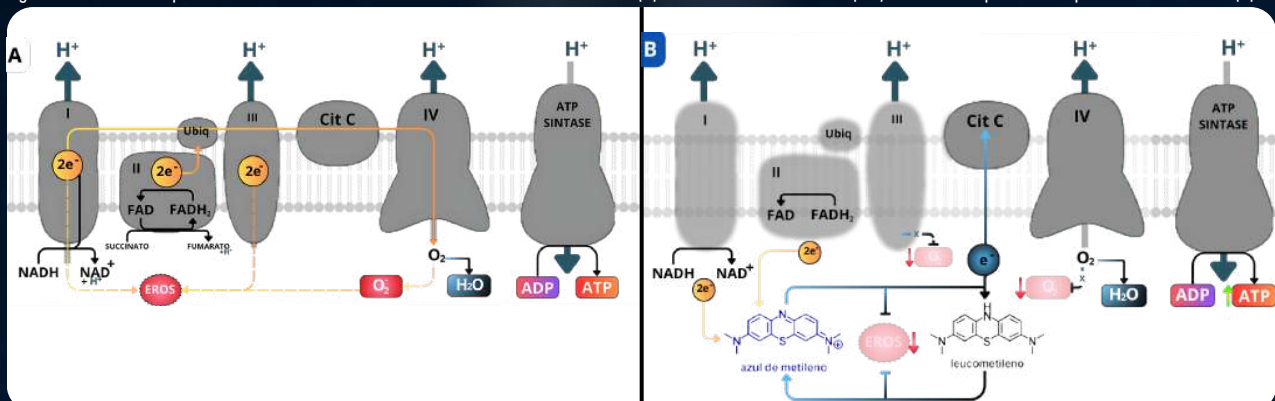
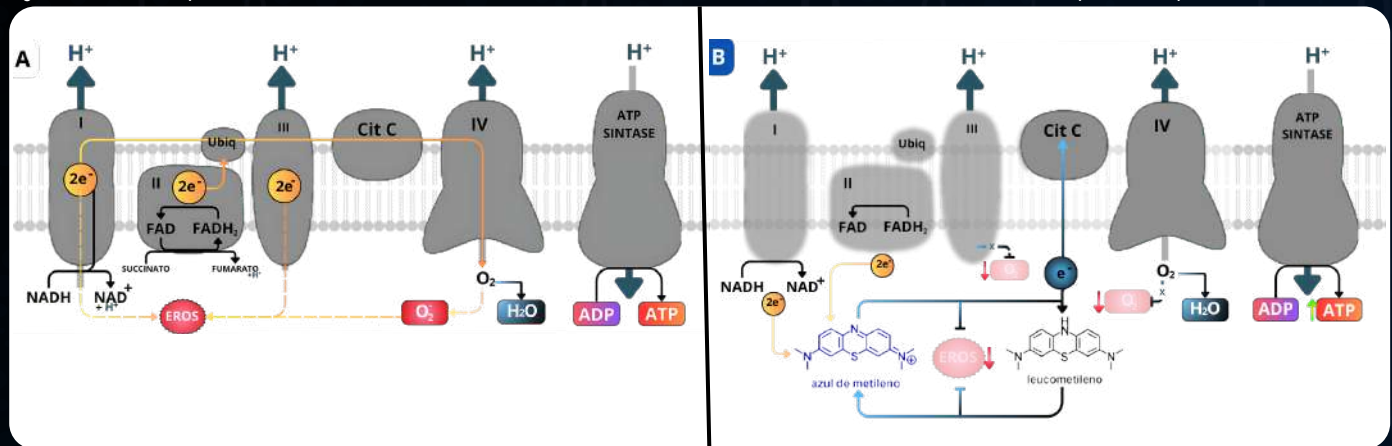


Figura 1 – Modelo comparativo teórico entre o funcionamento mitocondrial natural (A) e com o azul de metileno (AM) atuando aceptor e transportador de elétrons (B).



Legenda: A representação à esquerda (A) mostra o funcionamento tradicional da cadeia transportadora de elétrons (CTE) na mitocôndria, enfatizando o percurso dos elétrons através dos complexos I a IV, com oxidação das coenzimas NADH e FADH₂, geração de espécies reativas de oxigênio (EROS), e produção de ATP pela ATP sintase. Esse processo é fundamental para a respiração celular e para a produção de energia, mas é suscetível à geração de radicais livres como o superóxido, que pode resultar em estresse oxidativo e danos celulares.

A representação à direita (B) propõe um modelo inovador para a CTE, incorporando o uso do azul de metileno (AM) e sua forma reduzida leucometileno (LM) como agentes de transporte de elétrons. Nesse modelo, os elétrons são desviados diretamente para o complexo IV, evitando parcialmente o trânsito pelos complexos I e III, reduzindo assim o risco de vazamento de elétrons e a subsequente geração superóxido (O₂) e EROS.

A suposta via alternativa pode resultar em uma maior eficiência da cadeia respiratória, menor estresse oxidativo, e uma inibição mais eficaz da produção de superóxido (O₂) no complexo III e IV. Esse modelo sugere uma potencial estratégia para otimizar a produção de energia na mitocôndria, ao mesmo tempo, em que reduz riscos associados ao estresse oxidativo.

Com o uso do azul de metileno, e suas propriedades redox conhecidas, esse sistema poderia oferecer um caminho mais direto para a passagem dos elétrons na CTE, podendo assim, ter implicações para terapias focadas na redução de danos oxidativos e na melhoria da função mitocondrial em diversas condições patológicas.

Essa abordagem inovadora da cadeia transportadora de elétrons com o uso do azul de metileno (AM) e leucometileno (LM) como pontes eletrônicas diretas para o complexo IV também pode ter outras vantagens significativas.

Ao reduzir o fluxo de elétrons pelos complexos I e III, essa estratégia não apenas reduz a produção de espécies reativas de oxigênio (EROS), mas também diminui a probabilidade de danos mitocondriais e disfunções celulares associadas ao estresse oxidativo.

A possível melhora na eficiência da CTE também sugere aplicações potenciais no aprimoramento do desempenho metabólico, oferecendo uma ferramenta para estudos futuros em bioenergética e terapias focadas em otimizar a função mitocondrial.

ALTERAÇÕES MITOCONDRIAIS INDUZIDAS PELO AZUL DE METILENO (AM)

O azul de metileno (AM) demonstra a capacidade de ativar a sirtuína 1 (SIRT1), culminando na desacetilação da proteína quinase ativada por AMP (AMPK) e aumento da sua atividade. Essa atividade induzida pelo AM proporciona a indução do coativador gama 1-alfa do receptor ativado pelo proliferador de peroxissoma (PGC1- α), um importante fator no processo de biogênese mitocondrial, e indução expressão da proteína 1 do locus de Surfeína (SURF1), envolvido na biogênese do complexo do citocromo C oxidase (Complexo IV) [22,30].

Segundo Atamna [2019][21], a capacidade do azul de metileno (AM) de induzir a ativação da AMPK é 8 vezes maior que a do ribonucleotídeo 5-aminoimidazol-4-carboxamida (AICAR) um ativador de AMPK comumente utilizado. O AM proporcionou um aumento superior a 100% na atividade do citocromo C, o transportador de elétrons para o citocromo c oxidase (complexo IV), resultou também na diminuição de 28% dos agentes pró-oxidantes intracelulares em células tratadas. Fato revolucionário para a produção de ATP, funcionamento e sobrevivência celular.

O índice de erosão telômerar, que está associado à perda de função e morte celular, também diminuiu. O autor concluiu que o azul de metileno pode ser um poderoso agente prevenidor da senescência mitocondrial [21].

Shin et al. (2014)[22] constataram que o AM proporcionou a elevação da enzima carnitina palmitoiltransferase-1 (CPT-1), essencial na regulação da oxidação mitocondrial de lipídios, sendo um fator limitante para a entrada de ácidos graxos de cadeia longa para o interior da mitocôndria, e posteriormente oxidação dos mesmos.

Essa alteração, em conjunto com o aumento dos níveis de PPAR- α , pode modular vias metabólicas mitocondriais, favorecendo a β -oxidação dos ácidos graxos. Os autores destacaram um efeito protetor contra a acetilação e diminuição da ação da PGC1- α induzida pelo palmitato C16. De tal modo, sugere-se que o composto auxilie na manutenção de processos metabólicos oxidativos mesmo em dietas altas em gordura, que conseguem diminuir a eficiência desses processos.

Shen et al. (2019)[23] demonstraram que o AM demonstra capacidade inibitória da apoptose induzida pela liberação do citocromo C em mitocôndrias neuronais submetidas a baixa disponibilidade de oxigênio (hipóxia) e privação de glicose, além de regular positivamente os micro-RNAs. Concluindo que a intervenção com o AM se demonstrou eficaz na reversão da disfunção mitocondrial de células neuronais in vivo e in vitro submetidas a estes estressores.

Tucker, Lu e Zhang (2019)[15] concluíram que o AM consegue recuperar estruturas mitocondriais danificadas, de modo a regenerar o potencial de membrana e promover a mitofagia, processo fundamental para a reciclagem de mitocôndrias disfuncionais.

Além disso, atribuíram ao composto, o efeito indutor da autofagia, processo de reciclagem de organelas disfuncionais, pela suposta ativação da proteína quinase B (AKT). Ademais, identificaram que o composto proporciona uma regulação ascendente da expressão das subunidades do complexo IV, possivelmente pela indução do fator de respiração nuclear 1 (NRF-1).

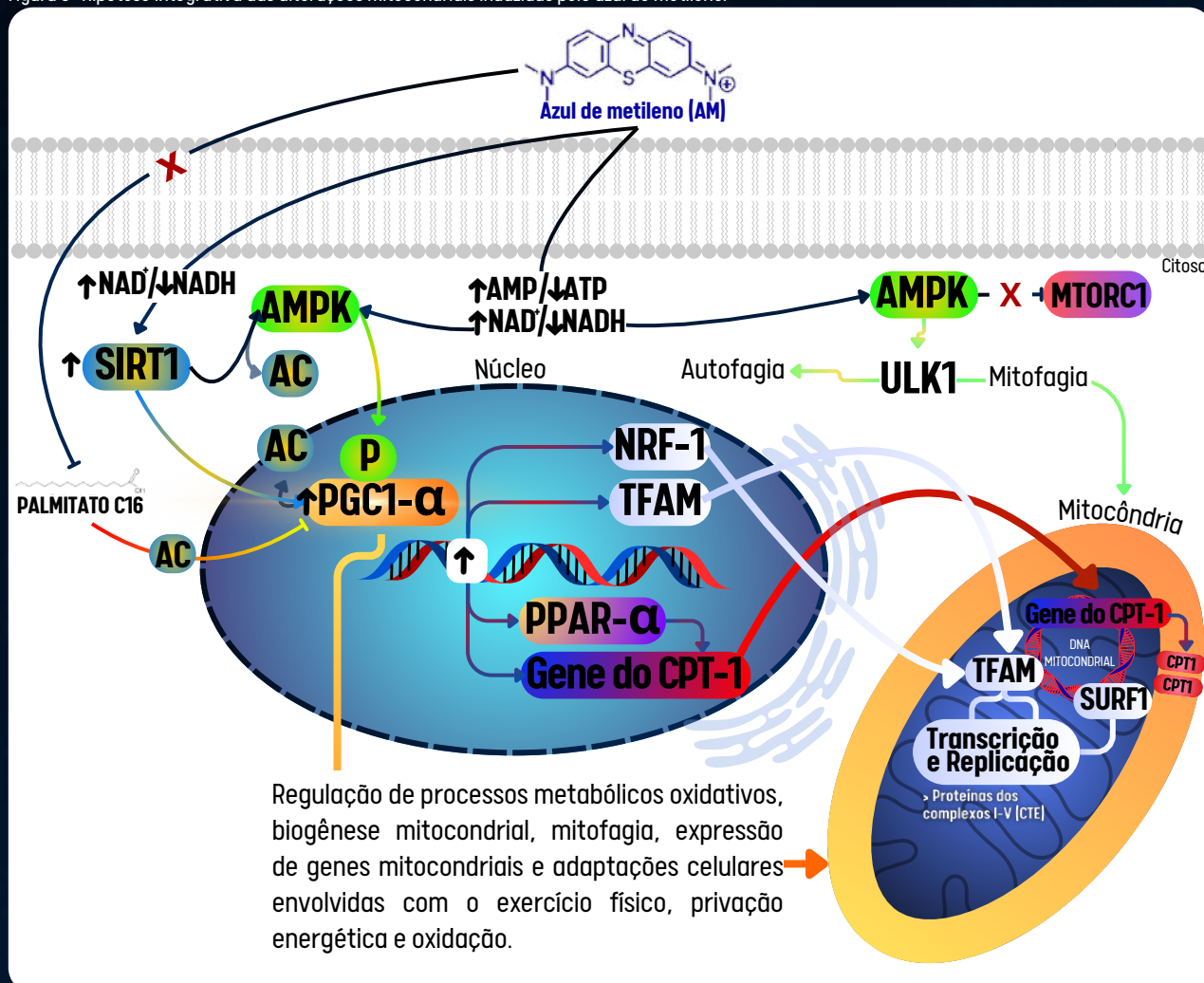
Os efeitos do azul de metileno (AM) no metabolismo mitocondrial-energético ainda não são completamente elucidados, de modo que, estudos nesse nicho ainda são escassos e preliminares, todavia, o composto aparenta apresentar efeitos interessantes na capacidade de síntese energética e funcionamento celular.

Análises realizadas por Komlódi e Tretter [2017][24], concluem que o composto aumenta a fosforilação ao nível de substrato, uma reação de síntese de ATP independente da enzima ATP sintase, ocorrendo como parte do ciclo tricarboxílico (ciclo de Krebs) e catalisada pela enzima succinil-CoA ligase. De modo a exercer um importante papel na homeostase energética de mitocôndrias comprometidas.

Choudhury et al. (2015)[31] e Bouillaud et al. (2022)[25] observaram que o azul de metileno (AM) amplifica a oxidação de carbono e demais substratos, além de aumentar o consumo de oxigênio e promover alterações positivas na via glicolítica, impactando diretamente na bioenergética e capacidade de síntese de ATP, recuperando a viabilidade celular de mitocôndrias com a cadeia transportadora de elétrons disfuncional.

Aparentemente, o azul de metileno (AM) modula o funcionamento celular por induzir alterações na relação AMP/ATP e NAD⁺/NADH, imitando um estado de privação energética.

Figura 3 -Hipótese integrativa das alterações mitocondriais induzidas pelo azul de metileno.



O TERMOGÊNICO AZUL

As modificações mitocondriais causados pelo azul de metileno (AM) sugerem que tal composto pode modificar profundamente a dinâmica bioenergética mitocondrial, favorecendo a respiração celular e produção de calor.

Bouillaud et al. (2022)[25] constataram que o AM induziu um estado de hipermetabolismo em ratos sedados, aumentando a taxa de consumo de oxigênio em repouso em conjunto com a produção de dióxido de carbono sem modificar a proporção $VO_2:VCO_2$. Uma descrição simplificada do metabolismo realizada pelos autores discute sobre tal fato e afirmaria que, o metabolismo, pode ser dividido em duas partes.

A primeira, resultante da oxidação de substratos fontes de carbono, redução de coenzimas (NAD e FAD) e liberação de CO_2 .

Já a segunda, consiste na respiração mitocondrial, que oxida as coenzimas reduzidas (NADH, $FADH_2$), juntamente com o aumento do consumo de O_2 . A relação entre o metabolismo e taxa oxidativa é intimamente ligada por meio de um sistema de feedback positivo, no qual o acúmulo de coenzimas na sua forma reduzida (NAD e FAD), devido a uma redução na respiração mitocondrial e taxa oxidativa, diminuirá o metabolismo. Contrariamente, qualquer aumento na taxa de oxidação induzirá um aumento metabólico semelhante, de maneira a inferirem que o azul de metileno aumentou efetivamente a taxa metabólica dos animais.

Considerando que os efeitos mais intensos do AM resultariam em uma oxidação completa da glicose e do acetil-CoA, levando à produção de 12 ATP e 3 ATP, respectivamente, a taxa de produção de ATP devido ao efeito máximo do AM poderia corresponder a cerca de 40% do total de ATP produzido, caso o rendimento da fosforilação oxidativa (FOX) seja próximo a 80% do normal.

Para essa estimativa, supõe-se que a atividade total da FOX gere cerca de 30 ATP a partir da oxidação completa da glicose e cerca de 8 ATP a partir da oxidação completa do acetil-CoA. Se o rendimento da FOX cair para 50% do normal, o AM pode contribuir com até 60% da produção total de ATP.

Essas estimativas podem explicar os benefícios observados do AM em diversas condições patológicas que envolvem comprometimento da bioenergética mitocondrial. Teoricamente, sendo ainda mais significativo em estados patológicos onde a taxa de fosforilação oxidativa tem um rendimento sub-ótimo, associado a disfunção e ineficiência da organela.

Concluindo assim, que a “divergência metabólica” induzida pelo AM, em respeito ao gasto energético, VO_2 , VCO_2 e redução do estresse oxidativo, o composto tem um comportamento idêntico aos compostos ‘termogênicos’ desacopladores de membrana, como, por exemplo, o 2,4-dinitrofenol – DNP.

Tretter et al. (2014)[32] notaram que o AM pôde proporcionar a recuperação da homeostase bioenergética em mitocôndrias com disfunções propositalmente induzidas, de modo que o composto estimulou a síntese de ATP, H_2O_2 e influxo de cálcio. Proporcionando a melhora de parâmetros afetados pela disfunção e promovendo a recuperação da função mitocondrial.

Ao avaliarem o efeito do AM nas células do miocárdio de ratos com diabetes mellitus tipo 1 (DMT1), Berthiaume et al. (2017)[28] concluíram que a intervenção proporcionou melhoras significativas nos índices hemodinâmicos e na ecocardiografia, de modo a melhorar o metabolismo, desempenho e funcionamento do órgão.

O efeito observado foi atribuído a capacidade amplificadora da oxidação da coenzima NADH e o aumento da atividade da enzima situada 3 deacetilase (SIRT 3), a enzima mais proeminente da classe, capaz de regular a deacetilação mitocondrial [27] e prover sua ação.

Tais efeitos na SIRT 3 constatados por Berthiaume et al. (2017)[28] resultaram na diminuição na atividade enzimática da 3-hidroxiacil-CoA desidrogenase e consequente diminuição da oxidação de ácidos graxos de cadeia longa no tecido cardíaco. Aliviando a inflexibilidade metabólica cardíaca nos ratos com diabetes mellitus tipo 1 (DMT1).

No contexto de estudos in vivo em modelos animais, destacam-se alguns achados intrigantes e preliminares sobre o uso do azul de metileno (AM) e o metabolismo das cobaias.

Gregoire (1931)[33] identificou que o AM pode modificar a taxa metabólica e consequentemente, a temperatura corporal em ratos, podendo ser um agente hipertermizante ou hipotermizante, dependendo das condições atmosféricas. Foi notado um aumento no metabolismo e temperatura corporal em ambientes com temperaturas iguais ou superiores à 28°C.

Contrariamente, em menores temperaturas, o composto teve um comportamento hipotermizante. O autor destacou que em ambientes com temperatura superiores à 32,5°C, houve um grande e rápido aumento na temperatura basal dos animais, resultando no óbito.

Apesar das diferenças entre modelos animais e humanos, os resultados são intrigantes e justificam a investigação adicional sobre os efeitos termogênicos desse composto em humanos, especialmente em contextos de clima tropical, exercícios físicos regulares e intervenção dietética.

A capacidade do azul de metileno(AM) de atuar como agente hipertermizante ou hipotermizante, dependendo da temperatura ambiente, sugere possíveis riscos, especialmente em locais com temperaturas elevadas, onde o aumento rápido na temperatura corporal pode ser letal.

No entanto, essa percepção abre portas para futuras investigações sobre esse possível efeito termogênico induzido pelo composto, e se, caso realmente ele ocorra em humanos, se existe a possibilidade deste proporcionar efeitos benéficos relacionados com o aumento do gasto calórico induzido.

COMPORTAMENTO SISTÊMICO

No contexto das vias de administração do azul de metileno (AM), destaca-se a endovenosa (EV), com recomendação de administração lenta de no mínimo 5 minutos, podendo ser utilizado puro ou diluído.

Ao compararem a administração endovenosa (EV) com a oral (OR) Nguyen e Gerstein (2019)[37] notaram que a administração EV de azul de metileno (AM) exibe um comportamento farmacocinético complexo, de distribuição multifásica em vários compartimentos teciduais, tal fato, modifica e desacelera a taxa de desaparecimento e excreção do composto. Relatando que a taxa de excreção urinária pode variar de 4 a 24 horas pós-administração e a meia-vida também é variável, podendo ser de 5 a 6,5 horas.

Tucker, Lu e Zhang (2019)[15] postularam que, independentemente da via de administração, o azul de metileno (AM) tem a meia-vida de aproximadamente 6,6 horas, acumulando-se em concentrações significativas nos tecidos, sendo que, a concentração de AM no tecido cerebral 1 hora após a administração EV é de uma magnitude de até dez vezes superior aos níveis sanguíneos circulantes. Por ter uma rápida absorção tecidual, o composto também apresenta um acúmulo substancial nos pulmões, fígado, rins e coração 3 minutos após a administração.

Peter et al. (2000)[38] estabeleceram o curso temporal plasmático do AM após a administração endovenosa (EV), constatando o comportamento multifásico já discutido, e relatando uma meia-vida terminal estimada do composto de 5,25 horas.

Os autores relataram também que, após administração oral, a área sob a curva de concentração-tempo foi significativamente menor quando comparada com a administração endovenosa (EV) (9 nmol/min/mL em comparação aos 137 nmol/min/mL).

O grupo concluiu que as diferenças na distribuição do azul de metileno em órgãos e tecidos são responsáveis pelas diferentes farmacocinéticas após administração oral (OR) e endovenosa (EV). Inferindo que o comportamento pós-administração o azul de metileno oral (OR) e endovenosa (EV) compartilha similaridades.

Concluí-se que, curso temporal do azul de metileno no sangue após administração oral atingiu as concentrações máximas após 1 a 2 horas da ingestão. A taxa de excreção urinária varia entre 4 e 24 horas, e independentemente da via de administração, o AM aparenta apresentar uma meia-vida média entre 5 e 6,6 horas.

Seu comportamento multifásico de distribuição entre os tecidos e órgão, juntamente com a escassez de dados na literatura atual, dificulta o correto mapeamento do comportamento do azul de metileno (AM) e seus metabólitos (azure A, B e C) no organismo humano, órgãos e tecidos.

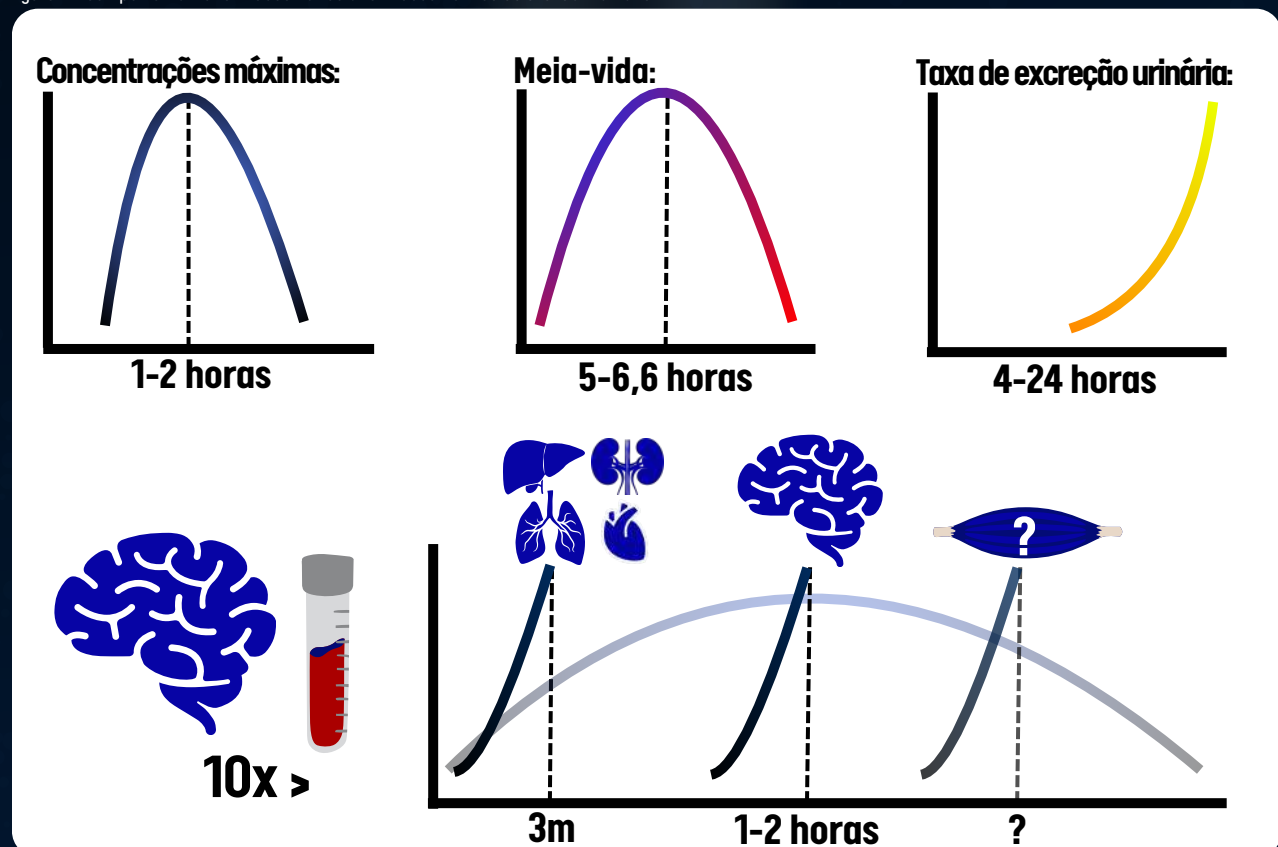
Todavia, partindo do fato que o azul de metileno (AM) rapidamente se acumula e concentra maiores magnitudes no cérebro, uma análise detalhada da composição e estruturas anexas deste órgão pode proporcionar reflexões e hipóteses sobre o comportamento sistêmico multifásico de distribuição.

O cérebro humano é majoritariamente composto por lipídios [39], sendo, também, um tecido altamente ativo do ponto de vista metabólico, elevadamente vascularizado e com altas taxas de perfusão vascular e dotado de um complexo sistema linfático [40,41]. Análises realizadas por Daniel et al. [2022][42] e Wu et al. [2022][43] evidenciaram que, o sistema linfático é um local de acúmulo do azul de metileno (AM), podendo este, ser um dos fatores determinantes do acúmulo de azul de metileno (AM) no órgão.

Considerando a natureza estrutural hidrossolúvel e lipossolúvel do azul de metileno (AM) e a união dos fatos anteriormente discorridos sobre sua distribuição e acúmulo tecidual, pode-se estabelecer um paralelo e possível relação entre fatores potencialmente determinantes da taxa e local de concentração e acúmulo tecidual do AM, sendo eles, em uma possível ordem de importância e influência:

(1) - vascularização e perfusão vascular; (2) - demanda e atividade metabólica; (3) - composição do tecido concentração; e (4) - fluxo linfático tecidual. De modo a ser de passível dedução que, o composto também poderia se acumular em maiores magnitudes no tecido muscular estriado esquelético e tecido epitelial intestinal.

Figura 4 - Comportamento farmacocinético e farmacodinâmico do azul de metileno.



APRESENTAÇÕES, DOSES E PROTOCOLOS

As concentrações comerciais disponíveis incluem o AM a 2% (20mg/mL) em ampola de 2mL. Em relação às doses utilizadas em humanos, é imprescindível considerar diferentes cenários clínicos: para a prevenção e tratamento da encefalopatia induzida por ifosfamida, são recomendados 50mg, endovenoso (EV), a cada 4 ou 8 horas, enquanto para metemoglobinemia, doses de 1-2mg/kg ou 25-50mg/m², EV, são sugeridas, podendo ser repetidas em caso de necessidade. Quanto ao choque vasoplégico, doses variam de 1-2mg/kg 1x/dia até 3 doses, ou infusão EV contínua de 0,25 a 2 mg/kg/hora [34,35].

A dosagem deve ser determinada por avaliação médica, considerando recomendações específicas, como a estimulação do aumento de mitocôndrias e AMPK com doses de 0,15-0,2mg/Kg, ou inibição da enzima óxido nítrico sintetase (NOS) com 2mg/Kg [34-36].

O uso do azul de metileno (AM) de forma não aprovada, conhecido como "off-label", incluindo o uso oral, abrange uma variedade de propósitos, sendo empregado pelos seus supostos efeitos antidepressivos, antioxidantes, anti-envelhecimento e ergogênicos.

As formas comerciais disponíveis para administração oral são geralmente diluídas em concentrações que variam de 0,1% a 5%, podendo serem encontradas e adquiridas em websites e/ou farmácias de manipulação sem a necessidade de receita médica.

Um intervalo de janela terapêutica comumente abordada e relatada na literatura estabelece um intervalo de 0,5-4mg/kg do azul de metileno administrado via endovenosa, sendo segura em humanos e capaz de estimular o metabolismo e respiração mitocondrial, amplificando a síntese energética oxidativa [19,45,46].

Acerca das doses orais, Singh et al. (2023)[45] observou que doses superiores a 1 mg/kg produzem efeitos negativos ao invés de amplificarem o metabolismo em humanos e ratos com o metabolismo cerebral saudável. De modo a concluir que, doses baixas e horméticas do AM (0,5-1mg/kg), podem proporcionar melhoras em indivíduos clinicamente saudáveis.

Dados sobre a biodisponibilidade oral do composto ainda são escassos e antigos, Walter-Sack et al. (2009)[46] avaliaram a ingestão de uma solução aquosa oral composta por azul de metileno (AM) e cloroquina, concluindo que, a biodisponibilidade varia de 52,1-84,9% (68,5±16,4) a 48,4-96,2% (72,3±23,9).

Adicionalmente, Clifton e Leikin (2003)[47] postularam que a taxa de absorção oral varia de 53 a 97%. Disanto e Wagner (1972)[48] verificaram que a taxa de recuperação urinária do AM em humanos é alta, apresentando uma média de 78% de modo a inferirem que o composto é bem absorvido pelo trato gastrointestinal humano.

Conclui-se que a meia-vida estimada do azul de metileno é de aproximadamente 6,6 horas, com o pico estimado de concentração plasmática ocorrendo 1 a 2 horas após a administração, com uma biodisponibilidade considerada elevada, mas ainda incerta.

Doses orais consideradas seguras e com potenciais terapêuticos variam de 0,5-4mg/kg, de modo que, doses mais baixas e horméticas (<1mg/Kg) aparentam ser especialmente vantajosas para indivíduos saudáveis para o melhoramento do metabolismo mitocondrial discutido nesse trabalho, enquanto doses maiores, podem proporcionar efeitos pronunciados na presença de patologias específicas.

COLATERAIS E CUIDADOS

Em respeito as dosagens e protocolos, Bistas e Sanghavi (2023)[44] avaliaram as dosagens do azul de metileno (AM), estabelecendo uma margem sua segurança em doses $<2\text{mg/kg}$ e periculosidade e presença de efeitos colaterais em doses $\geq 7\text{mg/kg}$.

Constatando que, o efeito colateral mais comum é o esverdeamento/azulamento da urina, contudo, não é classificado como perigoso. Em adultos, podem ocorrer efeitos incluindo náuseas, confusão mental e dores de cabeça.

A síndrome serotoninérgica pode ocorrer quando há o uso concomitante do azul de metileno em uma dose de 5mg/kg em conjunto com outros agentes serotoninérgicos [44], por exemplo, os fármacos antidepressivos inibidores seletivos da recaptação de serotonina: citalopram, escitalopram, fluoxetina, fluvoxamina, paroxetina, sertralina e vilazodona.

Fitoterápicos inibidores seletivos da receptação de serotonina ou que modulem o sistema serotoninérgico, por exemplo: Erva-de-São-João (*Hypericum perforatum*), Ashwagandha (*Withania somnifera*), Griffonia simplicifolia (5-HTP) e Rhodiola rosea.

Apesar do fato que a síndrome somente foi observada em doses consideradas elevadas de azul de metileno (AM), é prudente desaconselhar o uso desse agente em qualquer dosagem quando outro agente serotoninérgico está sendo empregado.

O azul de metileno (AM) também atua como um inibidor da enzima monoamina oxidase (MAO) A e B, em doses baixas e altas, respectivamente. De tal modo, a inibição da MAO-A proporciona uma maior disponibilidade sináptica de dopamina, serotonina e norepinefrina, e ao inibir a MAO-B, a dopamina é o neurotransmissor que fica mais disponível.

De tal modo, desaconselha-se o uso desse composto com fármacos inibidores dessa enzima, por exemplo: Isocarboxazida, moclobemida, fenelzina, selegilina e tranilcipromina.

E fitoterápicos: Passiflora incarnata (Maracujá), *Hypericum perforatum* (Erva-de-São-João), *Camellia sinensis* (Chá-verde), *Hordeum vulgare* (Cevada), *Panax ginseng* (Ginseng).

Adicionalmente, é fundamental abordar as doses toleradas e tóxicas, destacando que doses superiores a 7mg/kg podem apresentar toxicidade, enquanto doses menores oferecem geralmente o melhor efeito terapêutico antioxidante, sendo que, em doses maiores, o composto pode ser pró-oxidante [34-36].

A automedicação com azul de metileno é danosa e periculosa, de tal modo, tal prática é fortemente desencorajada e contraindicada!

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O azul de metileno (AM) emerge como um composto multifuncional com notáveis impactos mitocondriais e na homeostase bioenergética. Recebendo e transferindo elétrons diretamente para o citocromo C da CTE, intensificando a atividade do complexo IV, atenuando o estresse oxidativo e induzindo a fosforilação da AMPK.

Adicionalmente, o AM demonstra capacidade de amplificar a oxidação de substratos, fato positivo para a síntese de ATP, proporcionando melhorias em condições patológicas que envolvam a disfunção mitocondrial. Em conjunto, esses achados respaldam a promissora utilidade do azul de metileno como agente terapêutico, abrindo perspectivas para pesquisas mais aprofundadas e aplicações clínicas futuras.

Apesar de preliminares, são intrigantes os resultados que relacionam o composto com a melhora mitocondrial multifatorial, de modo a deixar os seguintes questionamentos: (1) – o AM poderia ser empregado em outros nichos, como o esportivo ou outro que se beneficie da melhora metabólica?; (2) – seria a melhora mitocondrial induzida pelo AM um potencial coadjuvante em intervenções direcionadas à perda de tecido adiposo, oferecendo um vetor promissor a ser explorado?; e (3) – O composto poderia auxiliar na melhora do desempenho física e mental de indivíduos saudáveis e com alguma patologia neurológica?.

Espero que este primeiro volume sobre o azul de metileno tenha esclarecido suas dúvidas e despertado interesse sobre este composto multifuncional e intrigante. No entanto, **vale reforçar que as informações aqui compartilhadas não são uma prescrição médica ou um incentivo para o uso do azul de metileno sem a devida supervisão e prescrição.**

Qualquer aplicação clínica ou intervenção terapêutica deve ser realizada com cautela e sob a orientação de um profissional de saúde qualificado. Fique atento a novas pesquisas que possam expandir nosso entendimento sobre este composto promissor, **mas sempre priorize a segurança, siga as orientações médicas especializadas e não pratique a automedicação.**

Caso você ainda não conheça meu trabalho, você pode me encontrar nas redes sociais ao procurar meu nome ou pelo @luisotavionutricao, siga-me e receba o melhor conteúdo de biohacking e nutrição na sua mão.

Te vejo no outro lado,

Luis Otávio Aguiar Caricchia

REFERÊNCIAS

1. Howland MA. Chapter 3.3 - Methylene blue. Em: Woolf AD, organizador. History of Modern Clinical Toxicology [Internet]. Academic Press; 2022. p. 231-41
2. Howland RH. Methylene Blue: The Long and Winding Road from Stain to Brain: Part 1. J Psychosoc Nurs Ment Health Serv. 1o de setembro de 2016;54(9):21-4. <https://doi.org/10.3928/02793695-20160818-01>
3. Baguley B, Biggar R, Beland F, Blanco E, Betz J, Cunningham M, et al. Some Drugs and Herbal Products. IARC monographs on the evaluation de carcinogenic risks to humans / World Health Organization, International Agency for Research on Cancer. janeiro de 2016;108:1-422. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK350406/>
4. Brokmeier HM, Seelhammer TG, Nei SD, Gerberi DJ, Mara KC, Wittwer ED, et al. Hydroxocobalamin for Vasodilatory Hypotension in Shock: A Systematic Review With Meta-Analysis for Comparison to Methylene Blue. Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia. 2023;37(9):1757-72. <https://doi.org/10.1053/j.jvca.2023.04.006>
5. Deng Y, Wang R, Li S, Zhu X, Wang T, Wu J, et al. Methylene blue reduces incidence of early postoperative cognitive disorders in elderly patients undergoing major non-cardiac surgery: An open-label randomized controlled clinical trial. Journal of Clinical Anesthesia. 2021;68:110108. <https://doi.org/10.1016/j.jclinane.2020.110108>
6. Hashmi M, Ahmed R, Mahmoud S, Ahmed K, Bushra N, Ahmed A, et al. Exploring Methylene Blue and Its Derivatives in Alzheimer's Treatment: A Comprehensive Review of Randomized Control Trials. Cureus. outubro de 2023;15. <https://doi.org/10.7759/cureus.46732>
7. Huang J, Gao X, Wang M, Yang Z, Xiang L, Li Y, et al. Prophylactic Administration with Methylene Blue Improves Hemodynamic Stabilization During Obstructive Jaundice-Related Diseases' Operation: a Blinded Randomized Controlled Trial. Journal of Gastrointestinal Surgery. abril de 2023;27. <https://doi.org/10.1007/s11605-022-05499-3>
8. Jia W, Li Q, Ni J, Zhang Y, Wu L, Xu L. Efficacy and safety of methylene blue injection for intractable idiopathic pruritus ani: a single-arm meta-analysis and systematic review. Techniques in Coloproctology. 1o de outubro de 2023;27(10):813-25. <https://doi.org/10.1007/s10151-023-02825-y>
9. Luna V, Johnson R, Funaro M, Canarie M, Pierce R. Methylene Blue for Refractory Shock in Children: A Systematic Review and Survey Practice Analysis. Pediatric Critical Care Medicine. março de 2020;21:1. <https://doi.org/10.1097/PCC.0000000000002295>

10. Taldaev A, Terekhov R, Nikitin I, Melnik E, Kuzina V, Klochko M, et al. Methylene blue in anticancer photodynamic therapy: systematic review of preclinical studies. *Frontiers in Pharmacology* [Internet]. 2023;14. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1264961>
11. Perdhana F, Kloping N, Witarto A, Nugraha D, Yogiswara N, Luke K, et al. Methylene blue for vasoplegic syndrome in cardiopulmonary bypass surgery: A systematic review and meta-analysis. *Asian cardiovascular & thoracic annals*. março de 2021;29:218492321998523. <https://doi.org/10.1177/0218492321998523>
12. Zhao CC, Zhai YJ, Hu ZJ, Huo Y, Li ZQ, Zhu GJ. Efficacy and safety of methylene blue in patients with vasodilatory shock: A systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Medicine* [Internet]. 2022;9. <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.950596>
13. Casanova A, Wevers A, Navarro Ledesma S, Pruimboom L. Mitochondria: It is all about energy. *Frontiers in Physiology*. abril de 2023;14. <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1114231>
14. Van der Bliek AM, Sedensky MM, Morgan PG. Cell Biology of the Mitochondrion. *Genetics*. novembro de 2017;207(3):843-71. <https://doi.org/10.1534/genetics.117.300262>
15. Tucker L, Lu Y, Zhang Q. From Mitochondrial Function to Neuroprotection—an Emerging Role for Methylene Blue. *Molecular Neurobiology*. junho de 2018;55:1-17. <https://doi.org/10.1007/s12035-017-0712-2>
16. Walker BR, Moraes CT. Nuclear-Mitochondrial Interactions. *Biomolecules* [Internet]. 2022;12(3). <https://doi.org/10.3390/biom12030427>
17. Moos WH, Faller DV, Glavas IP, Harpp DN, Kamperi N, Kanara I, et al. Pathogenic mitochondrial dysfunction and metabolic abnormalities. *Biochemical Pharmacology*. 2021;193:114809. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2021.114809>
18. Das M, Saucedo C, Webster NJG. Mitochondrial Dysfunction in Obesity and Reproduction. *Endocrinology*. 1o de janeiro de 2021;162(1). <https://doi.org/10.1210/endocr/bqaa158>
19. Xue H, Thaivalappil A, Cao K. The Potentials of Methylene Blue as an Anti-Aging Drug. *Cells*. dezembro de 2021;10:3379. <https://doi.org/10.3390/cells10123379>
20. Gureev AP, Samoylova NA, Potanina DV, Popov VN. The Effect of Methylene Blue and Its Metabolite—Azure I—on Bioenergetic Parameters of Intact Mouse Brain Mitochondria. *Biochemistry (Moscow), Supplement Series B: Biomedical Chemistry*. 1o de junho de 2022;16(2):148-53. <https://doi.org/10.1134/S1990750822020044>

21. Atamna H. Energy and Cellular-Defense Systems are Target for Anti-Senescence Activity of Methylene Blue. *The FASEB Journal*. 2019;33[S1]:794.11-794.11. https://doi.org/10.1096/fasebj.2019.33.1_supplement.794.11
22. Shin SY, Kim TH, Wu H, Choi YH, Kim SG. SIRT1 activation by methylene blue, a repurposed drug, leads to AMPK-mediated inhibition of steatosis and steatohepatitis. *European Journal of Pharmacology*. 2014;727:115-24. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.01.035>
23. Shen J, Xin W, Li Q, Gao Y, Yuan L, Zhang J. Methylene Blue Reduces Neuronal Apoptosis and Improves Blood-Brain Barrier Integrity After Traumatic Brain Injury. *Frontiers in Neurology*. novembro de 2019;10:1133. <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.01133>
24. Bouillaud F, Ransy C, Moreau M, Benhaim J, Lombès A, Haouzi P. Methylene blue induced O₂ consumption is not dependent on mitochondrial oxidative phosphorylation: Implications for salvage pathways during acute mitochondrial poisoning. *Respiratory Physiology & Neurobiology*. 2022;304:103939. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2022.103939>
25. Komlódi T, Tretter L. Methylene blue stimulates substrate-level phosphorylation catalysed by succinyl-CoA ligase in the citric acid cycle. *Neuropharmacology*. 2017;123:287-98. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.05.009>
26. Samoylova N, Gureev A, Popov V. Methylene Blue Induces Antioxidant Defense and Reparation of Mitochondrial DNA in a Nrf2-Dependent Manner during Cisplatin-Induced Renal Toxicity. *International Journal of Molecular Sciences*. março de 2023;24:6118. <https://doi.org/10.3390/ijms24076118>
27. Zhang J, Honggang X, Liu J, Chen Y, He RR, Liu B. Mitochondrial Sirtuin 3: New emerging biological function and therapeutic target. *Theranostics*. julho de 2020;10:8315-42. <https://doi.org/10.7150/thno.45922>
28. Berthiaume J, Hsiung CH, Austin A, McBrayer S, Depuydt M, Chandler M, et al. Methylene blue decreases mitochondrial lysine acetylation in the diabetic heart. *Molecular and Cellular Biochemistry*. agosto de 2017;432. <https://doi.org/10.1007/s11010-017-2993-1>
29. Yang L, Youngblood H, Wu C, Zhang Q. Mitochondria as a target for neuroprotection: role of methylene blue and photobiomodulation. *Translational Neurodegeneration*. 1o de junho de 2020;9(1):19. <https://doi.org/10.1186/s40035-020-00197-z>

30. Gureev AP, Shaforostova EA, Popov VN. Regulation of Mitochondrial Biogenesis as a Way for Active Longevity: Interaction Between the Nrf2 and PGC-1 α Signaling Pathways. *Frontiers in Genetics* [Internet]. 2019;10. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00435>
31. Roy Choudhury G, Winters A, Rich R, Ryou MG, Gryczynski Z, Yuan F, et al. Methylene Blue Protects Astrocytes against Glucose Oxygen Deprivation by Improving Cellular Respiration. *PLoS ONE*. abril de 2015;10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123096>
32. Tretter L, Horvath G, Hölgyesi A, Essek F, Adam-Vizi V. Enhanced hydrogen peroxide generation accompanies the beneficial bioenergetic effects of methylene blue in isolated brain mitochondria. *Free Radical Biology and Medicine*. 2014;77:317-30. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.09.024>
33. Gregoire PE. ACTION OF METHYLENE BLUE ON BODY TEMPERATURE AND METABOLISM. *Journal of Experimental Medicine*. dezembro de 1931;54[6]:827-45. <https://doi.org/10.1084/jem.54.6.827>
34. Oliveira FMA, Cabral GM, Eler JFDC, Pimental SJ, Peixoto VR, Paranhos WJ, Saliba WA. Azul de metileno para fins terapêuticos. *Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research*. Junho 2019. Acesso em: <https://encr.pw/MLGjm>
35. Hospital Sírio-Libanês. Azul de metileno. Janeiro de 2024. Acesso em: <https://l1nq.com/dBGkM>
36. Hospital Albert Einstein. Metemoglobinemia induzida pelo uso de drogas. Setembro de 2021. Acesso em: <https://acesse.dev/Uk2px>
37. Nguyen LP, Gerstein NS. Chapter 11 - Cardiovascular Pharmacology in Noncardiac Surgery. Em: Kaplan JA, Cronin B, Maus TM, organizadores. *Essentials of Cardiac Anesthesia for Noncardiac Surgery* [Internet]. New York: Elsevier; 2019. p. 247-88. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-56716-9.00011-4>
38. Peter C, Hongwan D, Küpfer A, Lauterburg B. Pharmacokinetics and organ distribution of intravenous and oral methylene blue. *European journal of clinical pharmacology*. julho de 2000;56:247-50. <https://doi.org/10.1007/s002280000124>
39. Yoon JH, Seo Y, Jo YS, Lee S, Cho E, Cazenave-Gassiot A, et al. Brain lipidomics: From functional landscape to clinical significance. *Sci Adv*. 16 de setembro de 2022;8[37]:eadc9317. <https://doi.org/10.1126/sciadv.adc9317>
40. Yang AC, Vest RT, Kern F, Lee DP, Agam M, Maat CA, et al. A human brain vascular atlas reveals diverse mediators of Alzheimer's risk. *Nature*. 1o de março de 2022;603[7903]:885-92. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-04369-3>
41. Khan S, Abdulla E, Rahman MM. Lymphatic system in the brain. *Ann Med Surg (Lond)*. julho de 2022;79:104082. <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2022.104082>

43. Wu YX, Mao QY, Kang YF, Xie S, Shan XF, Cai ZG. In Vivo Oral Sentinel Lymph Node Mapping by Near-Infrared Fluorescent Methylene Blue in Rats. *Diagnostics* [Internet]. 2022;12(11). <https://doi.org/10.3390/diagnostics12112574>
44. Bistas E, Sanghavi DK. Methylene Blue. Em: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557593/>
45. Singh N, MacNicol E, Dipasquale O, Randall K, Lythgoe D, Mazibuko N, et al. The effects of acute Methylene Blue administration on cerebral blood flow and metabolism in humans and rats. *Journal of cerebral blood flow and metabolism: official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. fevereiro de 2023;43:271678X231157958. <https://doi.org/10.1177/0271678X231157958>
46. Walter-Sack I, Rengelshausen J, Oberwittler H, Burhenne J, Mueller O, Meissner P, et al. High absolute bioavailability of methylene blue given as an aqueous oral formulation. *Eur J Clin Pharmacol*. fevereiro de 2009;65(2):179-89. <https://doi.org/10.1007/s00228-008-0563-x>
47. Clifton J 2nd, Leikin JB. Methylene blue. *Am J Ther*. agosto de 2003;10(4):289-91. <https://doi.org/10.1097/00045391-200307000-00009>
48. Disanto AR, Wagner JG. Pharmacokinetics of highly ionized drugs II: Methylene blue-absorption, metabolism, and excretion in man and dog after oral administration. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1972;61(7):1086-90. <https://doi.org/10.1002/jps.2600610710>